

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
31. Januar 2002 (31.01.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/08301 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C08F 8/00

GEHLEN, Arne [DE/DE]; Sonnenstrasse 23, 63743 Aschaffenburg (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/07666

(22) Internationales Anmeldedatum:
5. Juli 2001 (05.07.2001)

(74) Anwalt: FETT, Günter; Acordis AG, Kasinostrasse 19-21, 42103 Wuppertal (DE).

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): JP, US.

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

(30) Angaben zur Priorität:
100 36 082.3 25. Juli 2000 (25.07.2000) DE

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): MEMBRANA GMBH [DE/DE]; Öhder Strasse 28, 42289 Wuppertal (DE).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): LEMKE, Horst, Di-eter [DE/DE]; Dr. Kittel Weg 6, 63785 Obernburg (DE).

US2003/71502

(54) Title: MODIFIED POLYMERIC SHAPED BODY, METHOD FOR PRODUCING THE SAME AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: MODIFIZIERTER POLYMERER FORMKÖRPER, VERFAHREN ZU SEINER HERSTELLUNG UND SEINE VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to a modified polymeric shaped body that is producible by reacting diaminoguanidine and/or triaminoguanidine with a polymeric shaped starting body that carries groups R-X, wherein R is an alkylene group having 1 to 3 carbon atoms which is optionally substituted by a hydroxyl group, and X is a group that is substituted during the reaction by diaminoguanidine and/or triaminoguanidine, or with a polymeric shaped starting body that carries groups Y to which diaminoguanidine and/or triaminoguanidine can be added during reaction. The inventive modified polymeric body can be used to remove AGE precursors from blood, plasma or PBS buffer.

(57) Zusammenfassung: Mit einem modifizierten polymeren Formkörper, der herstellbar ist durch Umsetzung von Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste R-X trägt, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X eine Gruppe ist, die während der Umsetzung durch Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin substituiert wird oder mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste Y trägt, an die während der Umsetzung Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden, können AGE-Precursor aus Blut, Plasma oder PBS-Puffer entfernt werden.

WO 02/08301 A2

Modifizierter polymerer Formkörper, Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung

Beschreibung:

Die Erfindung betrifft einen modifizierten polymeren Formkörper, Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung.

Im Blut und im Blutplasma kommen insbesondere bei Nierenkranken und Diabetikern sog. AGE (Advanced Glycation Endproducts) vor. Diese sind Proteine, die durch Modifizierung und Vernetzung mit Abbauprodukten von Zuckern ihre Funktion verloren haben. Die AGE sind Ursache für verschiedene Folgeerkrankungen wie Atherosklerose und Amyloidose. Daher ist vielfach versucht worden, die AGE aus dem Blut oder Plasma zu entfernen.

Durch übliche Blutbehandlungsverfahren wie High-Flux Dialyse, Low-Flux Dialyse oder Hämodiafiltration lässt sich die AGE-Konzentration nicht wesentlich senken.

Im Stand der Technik sind verschiedene Ansätze zur Entfernung von AGE vorgeschlagen worden.

Im International Journal of Artificial Organs (1993), Band 16, Seiten 823-829 wird eine Adsorbersäule beschrieben, die mit hydrophobierten Cellulosekugeln gefüllt ist.

Damit wird zwar die Konzentration von β -2-Mikroglobulin und somit auch die Konzentration von AGE-modifiziertem β -2-Mikroglobulin verringert, jedoch werden gleichzeitig Proteine entfernt, die nicht entfernt werden sollen, wie z.B. RBP, Prolactin, C-PTH, HS-PTH und WBC.

Die US 5 891 341 beschreibt einen aus 17-18 Aminosäuren bestehenden durch Cystein geknüpften Ring, der auf einer Dialysemembran immobilisiert ist. Damit lassen sich zwar verschiedene AGE während einer Dialyse aus dem Blut entfernen. Jedoch werden nur die im Blut gelösten AGE entfernt. Bereits abgelagerte AGE werden durch diese Behandlung nicht erfasst. Außerdem ist die Handhabung einer solchen proteinmodifizierten Membran erheblich erschwert, da sie nicht sterilisiert werden kann. Zudem wird die AGE-Bildung als solche nicht unterbunden.

Die US 5 128 360 offenbart, dass Verbindungen mit aktivem Stickstoff, wie z.B. Aminoguanidin, α -Hydrazinohistidin und Lysin oder deren Gemische Mittel zur Inhibierung der AGE-Bildung darstellen. Gemäß US 5 128 360 scheinen diese Verbindungen mit frühen Glycosilierungsprodukten zu reagieren, wodurch diese an der AGE-Bildung gehindert werden. Die Verbindungen werden als Medikament verabreicht und kommen somit zwangsläufig mit dem Gewebe in Kontakt.

Die Zeitschrift Endocrinology and Metabolism (1996), Band 3, Seiten 149-166 offenbart, dass Aminoguanidin α -Oxyaldehyde wie z.B. Glyoxal, Methylglyoxal und 3-Deoxyglycoson, d.h. AGE-Precursor, abfängt und dadurch die AGE-Bildung verhindert. Jedoch führt Aminoguanidin im Kontakt mit dem Gewebe zu außerordentlich unerwünschten Nebenwirkungen in Gestalt der Unterdrückung der NO-Synthase.

Somit stellt sich die vorliegende Erfindung die Aufgabe, ein Erzeugnis und ein Verfahren zu seiner Herstellung zur Verfügung zu stellen, womit AGE-Precursor ohne

unerwünschte Nebenwirkungen aus Blut oder Plasma entfernt werden können, und womit die Bildung von AGE unterdrückt werden kann.

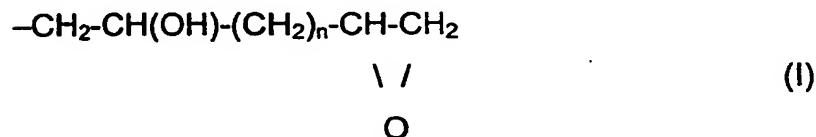
Diese Aufgabe wird zum einen durch einen modifizierten polymeren Formkörper gelöst, der herstellbar ist durch Umsetzung von Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste R-X trägt, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X eine Gruppe ist, die während der Umsetzung durch Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin substituiert wird oder mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste Y trägt, an die während der Umsetzung Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden.

Im erfindungsgemäßen modifizierten polymeren Formkörper sind Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin durch Substitutions- bzw. Additionsreaktionen kovalent an den polymeren Ausgangsformkörper gebunden, so dass der erfindungsgemäß modifizierte polymere Formkörper mit Diaminoguanidin- und/oder Triaminoguanidin-Liganden versehen ist. Durch die kovalente Bindung ist sichergestellt, dass sich beim Kontakt des erfindungsgemäßen modifizierten polymeren Formkörpers mit Blut oder Plasma keinerlei Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin löst und in Kontakt mit dem Gewebe kommt, wenn das Blut oder das Plasma in den Körper des Patienten eingeleitet wird. Überraschenderweise zeigen die Diaminoguanidin- und die Triaminoguanidin-Liganden eine hohe Reaktivität mit AGE-Precursern, weshalb diese schnell aus Blut oder Plasma entfernt werden können, wodurch sich die Bildung der AGE merklich unterdrücken lässt.

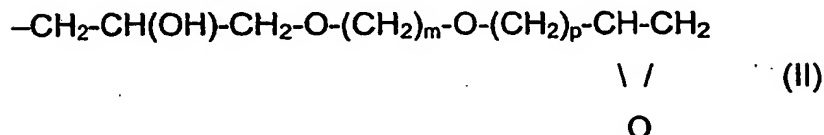
Als Reste R-X, welche der erfindungsgemäße polymere Ausgangsformkörper trägt, sind grundsätzlich alle R-X geeignet, mit denen Diaminoguanidin oder Triaminoguanidin eine nucleophile Substitutionsreaktion eingehen können, wobei als Reste R-X die Halomethylgruppen $-\text{CH}_2\text{-Cl}$, $-\text{CH}_2\text{-Br}$, $-\text{CH}_2\text{-I}$ oder $-\text{CH}_2\text{-CH(OH)-CH}_2\text{-Cl}$ be-

vorzugt werden, weil mit diesen Resten R-X die nucleophile Substitutionsreaktion schnell abläuft.

Als Reste Y, welche der erfindungsgemäße polymere Ausgangsformkörper trägt, sind grundsätzlich alle Reste Y geeignet, an die Diaminoguanidin oder Triaminoguanidin addiert werden können, wobei als Reste Y Epoxide der Formel



mit $n = 1$ bis 10 oder Epoxide der Formel



mit $m = 1$ bis 4 und $p = 1$ bis 3 bevorzugt werden, weil mit diesen Resten Y die Addition schnell abläuft.

In Kontakt mit AGE-Precursor haltigem Blut oder Plasma reagieren die Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin-Liganden des modifizierten polymeren Formkörpers mit den AGE-Precursoren unter Ausbildung chemischer Bindungen, sodass die AGE-Precursor irreversibel aus dem Blut oder Plasma entfernt werden. Beispielsweise reagieren die α,β -Dicarbonylgruppen der AGE-Precursor Glyoxal, Methylglyoxal und 3-Deoxyglycosen mit den Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin-Liganden unter Ausbildung von 1,2,4-Triazinen. Die Reaktion ist wegen der hohen Reaktivität der in den Liganden vorhandenen Hydrazin-Gruppen sehr schnell und bei Raumtemperatur bereits nach etwa 10 bis 15 Minuten beendet.

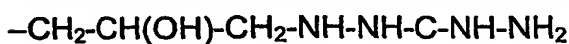
Der erfindungsgemäße modifizierte polymere Formkörper ist z.B. ein partikuläres Material mit vorzugsweise poröser Struktur, womit eine Adsorbersäule gefüllt werden kann, durch die Blut oder Plasma geleitet wird. Über die Korngröße und die Porosität des partikulären Materials kann eine hohe Oberfläche für die Reaktion der AGE-Precurser mit den Diaminoguanidin- und/oder Triaminoguanidin-Liganden zur Verfügung gestellt werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist der modifizierte polymere Formkörper eine semipermeable Polymermembran mit poröser Struktur, insbesondere eine Flach- oder Hohlfasermembran, wobei Polymermembranen besonders bevorzugt sind, die in Kontakt mit Plasma oder Blut hinreichend biokompatibel sind.

Der polymere Ausgangsformkörper, aus welcher der erfindungsgemäße modifizierte polymere Formkörper herstellbar ist, kann ein Biopolymer sein, z.B. Cellulose oder ein cellulosisches Polymer. Jedoch besteht der polymere Ausgangsformkörper vorzugsweise aus einem synthetischen Polymer, weil dessen chemisches Reaktionsverhalten leichter kontrollierbar ist als das Reaktionsverhalten beispielsweise von Cellulose.

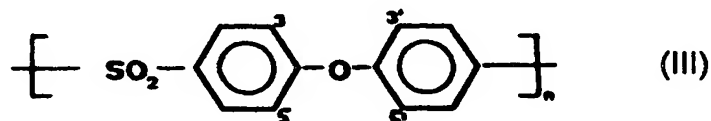
Als synthetisches Polymer wird ein Polyamid besonders bevorzugt. Bestens geeignet sind Polyamid 4,6, Polyamid 6,6 oder Polyamid 6.

Ein besonders bevorzugter modifizierter polymerer Formkörper der vorliegenden Erfindung ist aus einem polymeren Ausgangsformkörper herstellbar, der aus einem Polyamid besteht, wobei an die Aminoendgruppen des Polyamids



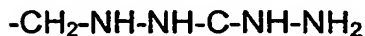
gebunden ist.

Des weiteren wird als polymerer Ausgangskörper ein Sulfongruppen enthaltendes Polymer bevorzugt, wie z.B. Polysulfon, Polyethersulfon oder Polyarylethersulfon. Besonders bevorzugt ist Polyethersulfon, d.h. ein Polymer mit der in der Formel (III) dargestellten Wiederholungseinheit.



Derartige Polyethersulfone sind z.B. unter dem Markennamen Ultrason E® (BASF) kommerziell erhältlich. Ein solches handelsübliches Polyethersulfon ist z.B. Ultrason E 6020 P mit einem durch Lichtstreuung bestimmten mittleren Molekulargewicht M_w von etwa 58 000.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform der vorliegenden Erfindung besteht der erfindungsgemäße Formkörper aus einem Polyethersulfon, wobei an einer oder mehreren der Positionen 3, 3', 5 und 5' des Polyethersulfons



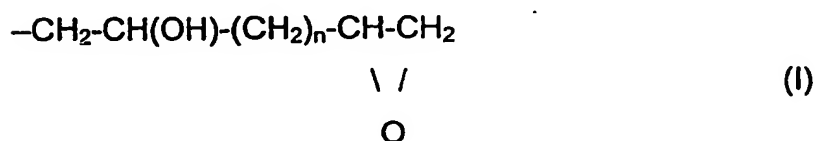
gebunden ist.

Die Aufgabe wird des Weiteren gelöst durch ein Verfahren zur Herstellung eines modifizierten polymeren Formkörpers umfassend die Schritte

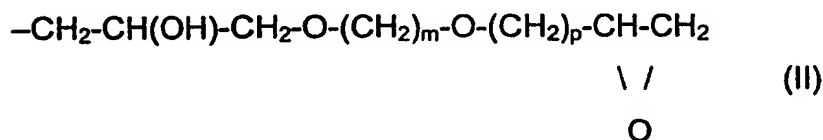
a) Einführen von Resten R-X, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X ein Halogenatom ist, in ein Polymer und Herstellen eines polymeren Ausgangskörpers aus dem die Reste R-X enthaltenden Polymer oder Einführen der Reste R-X mit der vorstehend genannten Bedeutung in einen polymeren Ausgangskörper oder Einführen eines Restes Y, an den Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden kann, in einen polymeren Ausgangskörper und

b) Umsetzen des die Reste R-X oder den Rest Y enthaltenden polymeren Ausgangsformkörpers mit Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin, um so den modifizierten polymeren Formkörper zu erhalten.

Bevorzugt wird als Rest Y ein Epoxid der Formel



mit $n = 1$ bis 10 oder ein Epoxid der Formel



mit $m = 1$ bis 4 und $p = 1$ bis 3 eingeführt.

Die Umsetzung des polymeren Ausgangsformkörpers mit Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin resultiert in einem modifizierten polymeren Formkörper, der an seiner Oberfläche Diaminoguanidin- und/oder Triaminoguanidin-Liganden trägt. Ist der polymere Ausgangsformkörper ein nichtporöses Material, dann ist nur die äußere Oberfläche mit Liganden versehen. Ist der polymere Ausgangsformkörper hingegen ein poröses Material, vorzugsweise ein mikroporöses Material, steht nicht nur die äußere Oberfläche sondern auch die durch die Poren gebildete innere Oberfläche zur Verfügung. Auf diese Weise entsteht eine hohe Dichte an Liganden, wodurch eine hohe Kapazität für die Bindung von AGE-Precursoren bereitgestellt wird.

In einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens wird als polymerer Ausgangsformkörper eine semipermeable Polymermembran mit poröser Struktur hergestellt bzw. eingesetzt.

Im Rahmen des erfindungsgemäßen Verfahrens ist als Polymer grundsätzlich jedes biokompatible Polymer geeignet, in das die Reste R-X eingeführt werden können. Als polymerer Ausgangsformkörper ist erfindungsgemäß jeder biokompatible polymere Ausgangsformkörper geeignet, in den die Reste R-X oder Y eingeführt werden können. Z.B. kann das Polymer bzw. der polymere Ausgangsformkörper aus einem Biopolymeren, etwa aus Cellulose oder aus einem cellulosischen Polymer bestehen.

Jedoch wird vorzugsweise im erfindungsgemäßen Verfahren in Schritt a) als Polymer ein synthetisches Polymer bzw. als polymerer Ausgangsformkörper ein Ausgangsformkörper aus einem synthetischen Polymer eingesetzt, weil das chemische Reaktionsverhalten synthetischer Polymerer leichter kontrollierbar ist als das Reaktionsverhalten beispielsweise von Cellulose.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist das synthetische Polymer Polyethersulfon, d.h. ein Polymer mit der in der Formel (II) dargestellten Wiederholungseinheit. Ein solches Polyethersulfon ist z.B. Ultrason E 6020 P (BASF) mit einem durch Lichtstreuung bestimmten mittleren Molekulargewicht M_w von etwa 58 000. Weitere bevorzugte synthetische Polymere sind andere, Sulfongruppen enthaltende Polymere, wie z.B. Polysulfon oder Polyarylethersulfon.

Insbesondere wird eine Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens bevorzugt, bei der in Schritt a) Polyethersulfon chlor-, brom- oder iodmethyliert und daraus ein chlor-, brom- oder iodmethylierter Polyethersulfon-Ausgangsformkörper hergestellt wird, der in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird. Ein besonders ge-

eignetes Verfahren zur Chlor-, Brom- oder Iodmethylierung von Polyethersulfon wird z.B. in der DE-A 100 12 332 beschrieben.

Ganz besonders bevorzugt wird in Schritt a) das Polyethersulfon chlor-, brom- oder iodmethyliert und daraus eine chlor-, brom- oder iodmethylierte Polyethersulfon-Membran hergestellt, die in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird.

In einer weiteren besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist das synthetische Polymer ein Polyamid. Bestens geeignet sind Polyamid 4,6, Polyamid 6,6 oder Polyamid 6.

Insbesondere wird eine Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens bevorzugt, bei der in Schritt a) ein Ausgangsformkörper aus Polyamid eingesetzt und mit Epichlorhydrin umgesetzt wird und nachfolgend in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird.

Ganz besonders bevorzugt wird in Schritt a) als Polyamid-Ausgangsformkörper eine Polyamid-Membran mit Epichlorhydrin und in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt. Als Polyamid-Membran bestens geeignet ist eine Polyamid 6-Membran, wie sie unter der Typenbezeichnung „micro PA 386c“ von Membrana GmbH erhältlich ist.

Für den Schritt b) des erfindungsgemäßen Verfahrens sind grundsätzlich alle Reaktionsbedingungen geeignet, unter denen die nucleophile aliphatische Substitution des Halogens X in R-X durch Diaminoguanidin oder Triaminoguanidin bzw. die Umsetzung des Restes Y mit Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin möglich ist. Besonders bevorzugt ist eine Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens, worin die Umsetzung in Schritt b) in einer wässrigen alkalischen Lösung stattfindet, weil unter diesen Bedingungen Diaminoguanidin und Triaminoguanidin die höchste Nucleophilie aufweisen.

Der Temperaturbereich für die Umsetzung in Schritt b) reicht von einer Temperatur oberhalb des Gefrierpunkts bis unterhalb des Siedepunkts der Aminoguanidin- und/oder Triaminoguanidin enthaltenden Lösung. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens findet die Umsetzung in Schritt b) in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis etwa 80 °C statt. Z.B. wird, wenn eine Reaktionszeit von 1 h angestrebt ist, für die Umsetzung einer mit Epichlorhydrin umgesetzten Polyamidmembran mit Diaminoguanidin eine Temperatur von 80 °C benötigt, während für die Umsetzung einer Polyethersulfonmembran, die aus chlormethyliertem Polyethersulfon hergestellt wurde, Raumtemperatur genügt.

Die erfindungsgemäßen modifizierten Formkörper lassen sich vorteilhaft in Verfahren einsetzen, bei denen AGE-Precursor aus Blut oder Plasma entfernt werden. AGE-Precursor sind reaktive Carbonylverbindungen. Daher lassen sich die erfindungsgemäßen modifizierten Formkörper erfolgreich zur Entfernung von reaktiven Carbonylverbindungen aus Blut, Plasma oder aus PBS-Puffer (8 g/l NaCl, 2,9 g/l $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ und 0,2 g/l Na_2HPO_4 , pH=7,4) verwenden.

Bevorzugt werden die erfindungsgemäßen modifizierten polymeren Formkörper zur Entfernung von Dicarbonylverbindungen, insbesondere von Glyoxal, Methylglyoxal, 3-Deoxyglycoson, Malondialdehyd, Glyceroldialdehyd und 2-Hydroxypropanal verwendet, die einzeln oder im Gemisch vorliegen.

Vorzugsweise wird der erfindungsgemäße modifizierte polymere Formkörper als modifizierte polymere Membran in einem geeigneten Gehäuse verwendet. Dabei ist die Membran z.B. eine Hämodialysemembran, so dass die AGE-Precursor während einer Hämodialyse chemisch an die Diaminoguanidin- oder Triaminoguanidin-Liganden gebunden und dadurch aus dem Blut entfernt werden. Des weiteren kann die modifizierte polymere Membran eine mikroporöse Membran sein, die in einem entsprechenden Modul angeordnet ist, wobei das zu behandelnde Blut oder Plasma im Dead-end Modus oder im Cross-flow Modus durch die Membran geleitet werden

kann. Ein solcher Modul kann als eigenständige Einheit oder in Kombination mit z.B. einem Hemodialysator eingesetzt werden.

Die mit dem erfindungsgemäßen modifizierten Formkörper mögliche Abtrennung von AGE-Precursern aus Blut, Plasma oder PBS-Puffer beruht auf einer chemischen Reaktion der AGE-Precurser mit den Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin-Liganden und ist somit unabhängig von der Größe der AGE-Precurser. Daher können mit dem erfindungsgemäßen modifizierten Formkörper große AGE-Precurser, die durch Dialyse nicht entfernbar sind, aus Plasma oder Blut entfernt werden.

Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele näher erläutert.

Beispiel 1: Modifizierte Polymermembran hergestellt aus einer Polyamid-Kapillarmembran, Epichlorhydrin und Diaminoguanidin

2 g einer Polyamid-Kapillarmembran („micro PA 386 c“, Membrana GmbH) werden in ein von unten anströmbares Rohr eingebracht. Zur Einführung der Chlor-Kohlenstoff Bindung in die Membran wird Epichlorhydrin als 5 Gew.-%ige Lösung in einem Lösungsmittel eingesetzt, das aus Wasser und Isopropanol in gleichen Gewichtsteilen besteht. Diaminoguanidin (DAG) wird als 5 Gew.-%ige wässrige Lösung eingesetzt, die eine zu DAG äquimolare Menge an NaOH enthält. Die Modifizierung der Polyamid-Kapillarmembran wird nach dem folgenden Agens/Zeit/Temperatur/Volumen – Schema durchgeführt. Nach jedem der in diesem Schema genannten Schritte wird das jeweilige Medium abgegossen.

| Agens | Zeit [min] | Temperatur [°C] | Volumen [ml] |
|--|---------------|--------------------|-----------------|
| H ₂ O/i-Propanol zum Benetzen der Membran | 10 | 50 | 200 |
| H ₂ O zum Waschen der Membran | 10 | 50 | 200 |
| H ₂ O zum Waschen der Membran | 10 | 100 | 200 |
| Epichlorhydrin/ H ₂ O/i-Propanol –Lösung zur Epoxidierung der Aminoendgruppen der Membran und Einführung der Cl-C Bindung | 60 | 50 | 200 |
| H ₂ O zum Waschen der Membran | 10 | 50 | 200 |
| DAG/NaOH/H ₂ O-Lösung zur Bindung von DAG an die Membran | 60 | 80 | 100 |
| H ₂ O zum Waschen der modifizierten Membran | 3 x (15 | 50 | 300) |

Die modifizierte Membran wird bis zur Gewichtskonstanz an der Luft getrocknet. Eine sterile Lagerung ist z.B. unter 70 %igem Ethanol möglich. Zum Nachweis, dass das DAG kovalent an die Membran gebunden ist, wird der Gehalt an -NH₂- Gruppen des Diaminoguanidins durch die Ninhydrinreaktion bestimmt.

Beispiel 2: Modifizierte Polymermembran hergestellt aus einer chlormethylierten Polyethersulfon-Flachmembran und Diaminoguanidin

Polyethersulfon wurde, wie in der DE-A 100 12 332 beschrieben, mit einem Substitutionsgrad von 0,03 chlormethyliert. Dabei bedeutet der Substitutionsgrad den Quotienten aus der Gesamtzahl der Chlormethylgruppen im chlormethylierten Polyethersulfon und der Gesamtzahl der Wiederholungseinheiten des Polyethersulfons.

Eine Lösung aus 8 g des chlormethylierten Polyethersulfons, 36 g Dimethylacetamid und 9,6 g Polyethylenglykol (PEG 200) wird zu einem Film mit einer Naßfilmdicke

von 75 µm gerakelt, an der Oberfläche mit Wasserdampf koaguliert, in Wasser gefällt, gewaschen und getrocknet. Die chlormethylierte Polyethersulfon-Flachmembran wird in eine Schale gelegt, die auf einem Schüttelbrett gelagert ist, und nach dem folgenden Agens/Zeit/Volumen – Schema mit Diaminoguanidin (DAG) bei Raumtemperatur umgesetzt. Das DAG wird als wässrige Lösung von 5 Gew.-%ige DAG und der äquimolaren Menge an NaOH eingesetzt. Nach jedem der im folgenden Schema genannten Schritte wird das jeweilige Medium abgegossen.

| Agens | Zeit [min] | Volumen [ml] |
|---|---------------|-----------------|
| H ₂ O/i-Propanol zum Benetzen der Membran | 10 | 100 |
| H ₂ O zum Waschen der Membran | 10 | 100 |
| DAG/NaOH/H ₂ O-Lösung zur Bindung von DAG an die Membran | 60 | 100 |
| H ₂ O zum Waschen der Membran | 3 x [10 | 200] |
| Mit HCl bis auf pH = 2 ansäuern | | |
| Mit H ₂ O Neutralwaschen der Membran | 3 x [10 | 200] |

Die Membran wird an Luft bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Beispiel 3: Hemmung der Pentosidin – Bildung in HD-Plasma mit einer DAG - modifizierten Polymermembran

Polyethersulfon wurde, wie in der DE-A 100 12 332 beschrieben, mit einem Substitutionsgrad von 0,17 chlormethyliert. Aus dem chlormethylierten Polyethersulfon wurde, wie in Beispiel 2 beschrieben, eine Flachmembran hergestellt und mit DAG umgesetzt.

Die im folgenden beschriebenen 12-tägigen Inkubationen bei 37 °C werden in Eppendorf-Kappen durchgeführt. Die modifizierte Membran wird mit HD-Plasma (Plasma von Hämodialysepatienten vor der Dialyse) inkubiert und danach die Konzentration des AGE's Pentosidin gemessen. Die Fläche der bei diesem Versuch eingesetzten modifizierten Membran wird so bemessen, dass pro ml HD-Plasma 5 µmol DAG vorhanden sind.

Die Pentosidin-Konzentrationen werden wie in *Kidney International*, Band 55 (1999), Seiten 2487-2492 beschrieben bestimmt. Die Ergebnisse sind im Balkendiagramm von Figur 1 dargestellt, wobei die Pentosidin-Konzentrationen in relativen Einheiten (rE) angegeben sind. Balken 5 von Figur 1 zeigt die Anfangskonzentration an Pentosidin im HD-Plasma, die ca. 6,3 rE beträgt. Balken 3 von Figur 1 zeigt die Pentosidin-Konzentration nach Inkubation des HD-Plasmas. Man erkennt, dass die im HD-Plasma vorhandenen AGE-Precursor zu einem Anstieg des AGE's Pentosidin auf ca. 19,3 rE führen, so dass während der Inkubation ca. 13 rE Pentosidin entstehen. Wie Balken 2 von Figur 1 zeigt, entsteht während der Inkubation der nicht modifizierten Polyethersulfonmembran etwa gleich viel Pentosidin. In Balken 1 von Figur 1 ist die Pentosidin-Konzentration dargestellt, die nach Inkubation mit der modifizierten Membran gemessen wird. Setzt man die ohne Membran entstandenen 13 rE Pentosidin gleich 100 %, bedeuten die bei Verwendung der modifizierten Membran entstandenen 7,4 rE Pentosidin, dass mit der modifizierten Membran nur ca. 57 % des Pentosidins entstanden ist. Somit führte die modifizierte Membran zu einer Unterdrückung der Pentosidin-Bildung um ca. 43 %. Balken 4 zeigt die Pentosidin-Konzentration nach Inkubation des HD-Plasmas mit 5 µmol Aminoguanidin pro ml HD-Plasma. In Anbetracht der eingezeichneten Fehlergrenzen resultiert etwa die gleiche Pentosidin-Konzentration wie mit der modifizierten Polymermembran, so dass bezogen auf die gleiche Zahl reaktiver Gruppen die kovalente Bindung des DAG's im Vergleich zum freien Aminoguanidin nicht zu einer verringerten Hemmung der Pentosidin-Bildung führt.

Beispiel 4: Hemmung der Pentosidin – Bildung in dialysiertem HD-Plasma mit einer DAG - modifizierten Polymermembran

Beispiel 3 wurde wiederholt mit dem Unterschied, dass ein HD-Plasma verwendet wird, das 3 mal 8 h lang gegen Celluloseregenerat mit einer Ausschlussgrenze von 3500 Dalton dialysiert wurde.

Die Ergebnisse sind im Balkendiagramm von Figur 2 dargestellt. Dessen Balken 4 zeigt die Anfangskonzentration an Pentosidin im HD-Plasma, die ca. 6 rE beträgt. Balken 2 von Figur 1 zeigt die Pentosidin-Konzentration nach Inkubation des HD-Plasmas ohne die modifizierte Membran. Man erkennt, dass die im HD-Plasma vorhandenen AGE-Precursor zu einem Anstieg des AGE's Pentosidin auf ca. 9,6 rE führen, so dass während der Inkubation ca. 3,6 rE Pentosidin entstehen. In Balken 1 von Figur 2 ist die Pentosidin-Konzentration dargestellt, die nach Inkubation mit der modifizierten Membran gemessen wird. Setzt man die ohne Membran entstandenen ca. 3,6 rE Pentosidin gleich 100 %, bedeuten die bei Verwendung der modifizierten Membran entstandenen ca. 2,4 rE Pentosidin, dass mit der modifizierten Membran nur ca. 66 % des Pentosidins entstanden ist. Somit führte die modifizierte Membran zu einer Unterdrückung der Pentosidin-Bildung um ca. 34 %. Balken 3 von Figur 2 zeigt die Pentosidin-Konzentration nach Inkubation des HD-Plasmas mit 5 µmol Aminoguanidin pro ml HD-Plasma. In Anbetracht der eingezeichneten Fehlergrenzen resultiert etwa die gleiche Pentosidin-Konzentration wie mit der modifizierten Polymermembran.

Beispiel 5: Bindung von Methylglyoxal aus PBS-Puffer mit einer DAG - modifizierten Polymermembran

In Eppendorf-Kappen werden 1 ml PBS-Puffer, pH = 7,4, (Fa. Sigma), der u.a. den AGE-Precursor Methylglyoxal (MGO) in einer Konzentration von 1 mM enthält, mit einer chlormethylierten und mit Diaminoguanidin (DAG) umgesetzten Polyethersul-

fon-Flachmembran gemäß Beispiel 3 kontaktiert. Die Fläche der modifizierten Membran wird so bemessen, dass 1 μmol $\text{NH}_2\text{-NH}$ – Gruppen des DAG's in Kontakt mit dem MGO-haltigen PBS-Puffer stehen.

Nach 4 h auf einem Schüttelbrett bei Raumtemperatur wird die MGO-Konzentration im PBS-Puffer nach folgendem Verfahren bestimmt: 100 μl MGO-haltiger PBS-Puffer, 10 μl 2,3-Butandionlösung als interner Standard, 80 μl Perchlorsäure (2M) und 40 μl Ortho-Diaminophenyl-Lösung (1%ig) werden vereint und 1 h in der Dunkelheit bei Raumtemperatur umgesetzt. Dabei reagiert die Dicarbonylverbindung MGO mit dem ortho-Diaminophenyl zum entsprechenden Chinoxalin-Derivat. Der PBS-Puffer enthält zusätzlich die AGE-Precursor Glyoxal und 3-Deoxyglycose (je 1 mM), die mit ortho-Diaminophenyl zu den entsprechenden Chinoxalin-Derivaten umgesetzt werden.

Die entstandenen Chinoxalin-Derivate können durch HPLC aufgetrennt und mit einem UV-Detektor bei 315 nm detektiert werden. Der nach 19,7 Minuten erscheinende Peak ist dem MGO zuzuordnen. Als Säulenmaterial dient „Puresil“ von Fa. Waters (C18, 120 Å, 4,6 x 250 mm). Die Säule wird mit einer Flussrate von 1 ml/min betrieben. Der die derivatisierten AGE-Precursor enthaltende PBS-Puffer wird eingespritzt. Anschließend wird mit den Lösungen A (0,1 % Trifluoressigsäure in Wasser) und B (0,08 % Trifluoressigsäure in 80%iger wässriger Acetonitril-Lösung) das im folgenden beschriebene Konzentrations/Zeit-Programm gefahren.

| Zeit [min] | Konzentration von Lösung B (Differenz zu 100 % ist Lösung A) |
|------------|--|
| 0 | 15 % |
| 0 - 25 | 15 – 28 %, linear ansteigend |
| 25-27 | 100 % |

Die Ergebnisse sind in Figur 3 dargestellt, wobei die MGO-Konzentration in relativen Einheiten (rE) angegeben ist. Die Balken 1-7 von Figur 3 zeigen die MGO-Konzentrationen im PBS-Puffer, der die modifizierte Polymermembran enthielt. Die modifi-

zierten Polymermembranen wurden nach ihrer Herstellung in die HCl-Form gebracht (Balken 1 und 2 von Figur 3), als freie Base eingesetzt (Balken 3 und 4 von Figur 3), in die HCl-Form gebracht und in Wasser gelagert (Balken 5 von Figur 3), in wässriger NaN_3 -Lösung (Balken 6 von Figur 3) und als freie Base in Wasser gelagert (Balken 7 von Figur 3) und danach mit dem MGO-haltigen PBS-Puffer in Kontakt gebracht. Die Balken 1-7 von Figur 3 zeigen, dass nach der Kontaktzeit von 4 Stunden mit dem AGE-haltigen PBS-Puffer unabhängig von der Form, in der die modifizierte Polymermembran eingesetzt wurde, die MGO-Konzentration im PBS-Puffer mit ca. 5 rE nur etwa ein Sechstel der MGO-Konzentration beträgt, die in den PBS-Puffern gemessen wurden, in denen sich eine lediglich chlormethylierte Polyethersulfon-Membran (Balken 8 in Figur 3) und eine vor dem Versuch trocken gelagerte Polyethersulfon-Membran (Balken 9 in Figur 3) befand. Etwa gleich viel MGO wird im PBS-Puffer ohne Membran gefunden (Balken 10 von Figur 3), während PBS-Puffer, der 1 μmol Aminoguanidin-Hydrochlorid enthielt (Balken 11 von Figur 3) in etwa die MGO-Konzentration aufweist, die in den PBS-Puffern mit den modifizierten Polymermembranen gefunden werden.

Beispiel 6: Bindung von AGE-Precursern aus HD-Plasma mit einer DAG - modifizierten Polymermembran

Beispiel 5 wurde wiederholt mit dem Unterschied, dass statt PBS-Puffer HD-Plasma eingesetzt wurde, das u.a. die AGE-Precursor Methylglyoxal (MGO), Glyoxal (GO) und eine reaktive Dicarbonylverbindung enthält, deren Chinoxalin-Derivat mit der in Beispiel 5 beschriebenen HPLC-Methode nach 14,3 Minuten detektiert wird. Die Fläche der modifizierten Membran wird so bemessen, dass 10 μmol $\text{NH}_2\text{-NH}$ - Gruppen des DAG's in Kontakt mit dem HD-Plasma stehen.

Zur Bestimmung der AGE-Precursor müssen zuerst die Proteine aus dem HD-Plasma entfernt werden. Dazu werden 200 μl des HD-Plasmas in einer Eppendorfkappe mit 200 μl Wasser (reinst) verdünnt. Dann werden 100 μl 2M HClO_4 zuge-

mischt, wodurch die Proteine präzipitieren. Zum Niederschlagen des Präzipitats wird 3 min lang bei 12000 U/min und anschließend durch einen 0,45 µm Filter 3 min lang bei 5000 U/min zentrifugiert. Nach Zugabe von 5 µl 2,3-Butandion als interner Standard und 20 µl einer 1%igen ortho-Phenylendiaminlösung wird 1 h lang bei Raumtemperatur reagiert, wodurch die AGE-Precursor in ihre Chinoxalin-Derivate überführt werden. Deren Auftrennung durch HPLC erfolgt wie in Beispiel 5 beschrieben.

Die Ergebnisse für MGO sind in Figur 4 dargestellt. Balken 2 von Figur 4 zeigt die MGO-Konzentration in relativen Einheiten (rE), die nach 4 Stunden Kontaktzeit zwischen der modifizierten Polymermembran und dem HD-Plasma gemessen wurde. Im Vergleich zur MGO-Konzentration, die im HD-Plasma ohne Membran (Balken 6 von Figur 4) gemessen wurde, beträgt die MGO-Konzentration nach dem 4-stündigen Kontakt mit der modifizierten Polymermembran nur ca. 42 %. Die Balken 3, 4 und 5 von Figur 4 zeigen die MGO-Konzentrationen, die nach 4 Stunden Kontaktzeit mit HD-Plasma erhalten wurden, das 20, 5 und 1 µmol Aminoguanidin-Hydrochlorid pro ml HD-Plasma enthält. Balken 1 von Figur 4 zeigt die MGO-Konzentration in HD-Plasma, das 3 mal 8 h lang gegen Celluloseregenerat mit einer Ausschlussgrenze von 3500 Dalton dialysiert wurde. Angesichts seiner Größe sollte MGO dadurch vollständig entfernt sein, jedoch sind nach der Dialyse noch ca. 1,5 rE an MGO im HD-Plasma vorhanden.

Die Ergebnisse für die in der HPLC nach 14,3 Minuten detektierte reaktive Dicarbonylverbindung sind in Figur 5 dargestellt. Balken 2 von Figur 5 zeigt die Konzentration des reaktiven Dicarbonyls in relativen Einheiten (rE), die nach 4 Stunden Kontaktzeit zwischen der modifizierten Polymermembran und dem HD-Plasma gemessen wurde. Im Vergleich zur Konzentration des reaktiven Dicarbonyls, die im HD-Plasma ohne die modifizierte Polymermembran gemessen wurde (Balken 6 von Figur 5), beträgt die Konzentration des reaktiven Dicarbonyls nur ca. 7 %. Die Balken 3, 4 und 5 von Figur 5 zeigen die Restkonzentrationen des reaktiven Dicarbonyls in HD-Plasma, die nach 4 Stunden Kontaktzeit mit einem HD-Plasma erhalten wurden, dem 20, 5 und 1 µmol Aminoguanidin-Hydrochlorid pro ml HD-Plasma zugesetzt

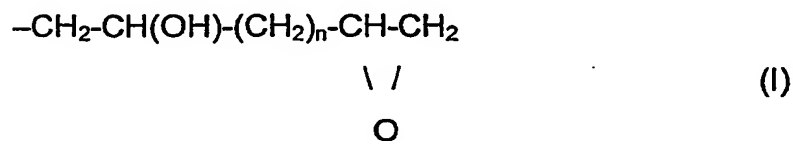
worden waren. Balken 1 von Figur 5 zeigt die Konzentration des reaktiven Dicarbonyls, das zuvor 3 mal 8 h gegen Celluloseregenerat mit einer Ausschlussgrenze von 3500 Dalton dialysiert wurde. Der Vergleich von Balken 1 mit Balken 2 von Figur 5 zeigt, dass durch die modifizierte Polymermembran das im HD-Plasma vorkommende reaktive Dicarbonyl wesentlich effizienter entfernt wird als durch die Dialyse.

Die Ergebnisse für GO sind in Figur 6 dargestellt. Balken 2 von Figur 6 zeigt die GO-Konzentration in relativen Einheiten (rE), die nach 4 Stunden Kontaktzeit zwischen der modifizierten Polymermembran und dem HD-Plasma gemessen wurde. Im Vergleich zur GO-Konzentrationen, die im HD-Plasma ohne die modifizierte Polymermembran gemessen wurde (Balken 6 von Figur 6), beträgt die GO-Konzentration nur ca. 37 %. Die Balken 3, 4 und 5 von Figur 6 zeigen die GO-Konzentrationen, die nach 4 Stunden Kontaktzeit mit HD-Plasma erhalten wurden, das 20, 5 und 1 μmol Aminoguanidin-Hydrochlorid pro ml HD-Plasma enthielt. Balken 1 von Figur 6 zeigt die GO-Konzentration in HD-Plasma, das zuvor 3 mal 8 h gegen Celluloseregenerat mit einer Ausschlussgrenze von 3500 Dalton dialysiert wurde. Durch die Dialyse wurde das kleine GO-Molekül vollständig entfernt.

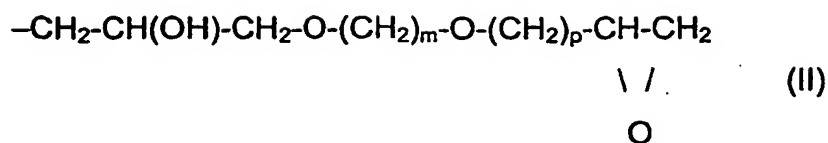
Modifizierter polymerer Formkörper, Verfahren zu seiner Herstellung und seine Verwendung

Patentansprüche:

1. Modifizierter polymerer Formkörper herstellbar durch Umsetzung von Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste R-X trägt, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X eine Gruppe ist, die während der Umsetzung durch Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin substituiert wird oder mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste Y trägt, an die während der Umsetzung Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden.
2. Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Reste R-X die Halomethylgruppen $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{CH}_2\text{I}$ oder $-\text{CH}_2\text{-CH(OH)-CH}_2\text{Cl}$ sind.
3. Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Reste Y Epoxide der Formel

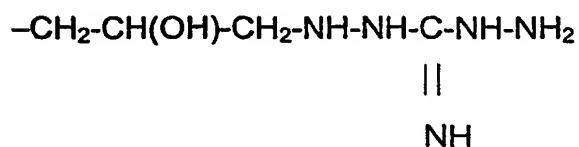


mit $n = 1$ bis 10 oder Epoxide der Formel



mit $m = 1$ bis 4 und $p = 1$ bis 3 sind.

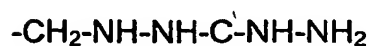
4. **Modifizierter polymerer Formkörper nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass er eine Polymermembran ist.**
5. **Modifizierter polymerer Formkörper nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass der polymere Ausgangsformkörper aus einem synthetischen Polymer besteht.**
6. **Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass das synthetische Polymer ein Polyamid ist.**
7. **Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass der polymere Ausgangsformkörper ein Polyamid ist und an die Aminoendgruppen**



gebunden ist.

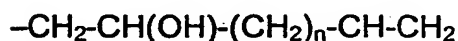
8. Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass der polymere Ausgangsformkörper ein Polyethersulfon ist.

9. Modifizierter polymerer Formkörper nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass an einer oder mehreren der Positionen 3, 3', 5 und 5' des Polyethersulfons



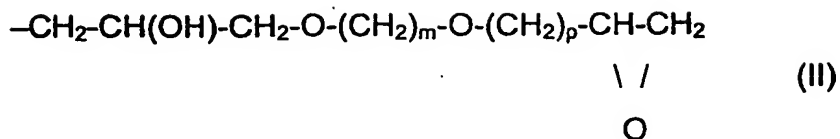
gebunden ist.

10. Verfahren zur Herstellung eines modifizierten polymeren Formkörpers umfassend die Schritte
- a) Einführen von Resten R-X, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X ein Halogenatom ist, in ein Polymer und Herstellen eines polymeren Ausgangsformkörpers aus dem die Reste R-X enthaltenden Polymer oder Einführen der Reste R-X mit der vorstehend genannten Bedeutung in einen polymeren Ausgangsformkörper oder Einführen eines Restes Y, an den Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden kann, in einen polymeren Ausgangsformkörper und
- b) Umsetzen des die Reste R-X oder den Rest Y enthaltenden polymeren Ausgangsformkörpers mit Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin, um so den modifizierten polymeren Formkörper zu erhalten.
11. Verfahren nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass der Rest Y ein Epoxid der Formel



(I)

mit n = 1 bis 10 oder ein Epoxid der Formel



mit $m = 1$ bis 4 und $p = 1$ bis 3 ist.

12. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass als polymerer Ausgangsformkörper eine semipermeable Polymermembran mit poröser Struktur hergestellt bzw. eingesetzt wird.
13. Verfahren nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt a) als Polymer ein synthetisches Polymer bzw. als polymerer Ausgangsformkörper ein Ausgangsformkörper aus einem synthetischen Polymeren eingesetzt wird.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt a) das synthetische Polymer ein Polyethersulfon ist.
15. Verfahren nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt a) das Polyethersulfon chlor-, brom- oder iodmethyliert und daraus ein chlor-, brom- oder iodmethylierter Polyethersulfon-Ausgangsformkörper hergestellt wird, der in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird.
16. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, dass das synthetische Polymer ein Polyamid ist.
17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, dass in Schritt a) ein Ausgangsformkörper aus Polyamid eingesetzt und mit Epichlorhydrin umgesetzt wird und nachfolgend in Schritt b) mit Diaminoguanidin umgesetzt wird.

18. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass die Umsetzung in Schritt b) in einer wässrigen alkalischen Lösung stattfindet.
19. Verfahren nach einem der Ansprüche 10 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Umsetzung in Schritt b) in einem Temperaturbereich von Raumtemperatur bis etwa 80 °C stattfindet.
20. Verwendung des modifizierten polymeren Formkörpers nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 19 zur Entfernung von reaktiven Carbonylverbindungen aus Blut, Plasma oder PBS-Puffer.
21. Verwendung nach Anspruch 20 dadurch gekennzeichnet, dass die reaktiven Carbonylverbindungen Dicarbonylverbindungen sind.
22. Verwendung nach Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Dicarbonylverbindungen Glyoxal, Methylglyoxal, 3-Deoxyglycose, Malondialdehyd, Glycaldialdehyd und 2-Hydroxypropanal sind, die einzeln oder im Gemisch vorliegen.
23. Verwendung nach einem oder mehreren der Ansprüche 20 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass der modifizierte polymere Formkörper eine modifizierte polymere Membran ist.

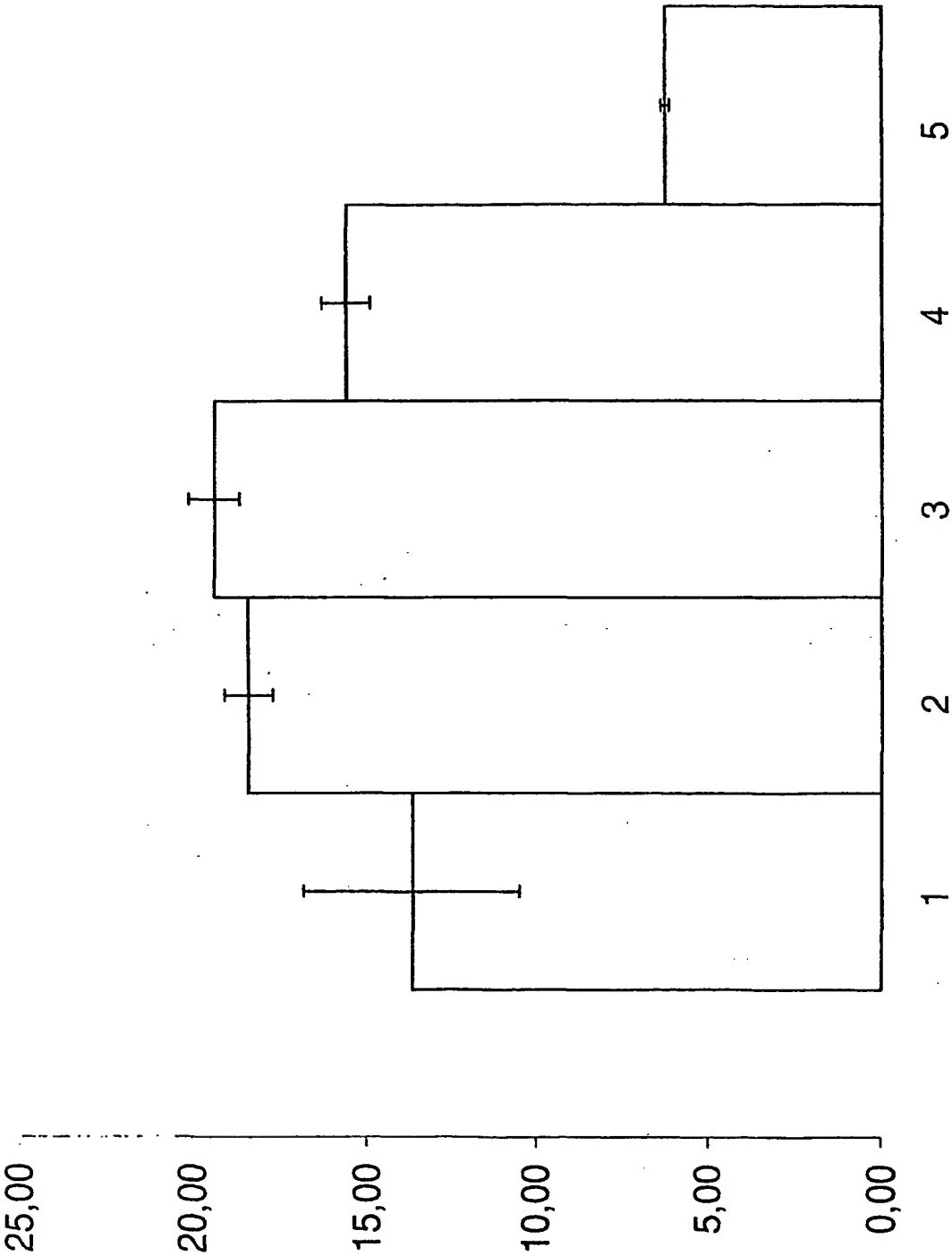


Fig 1

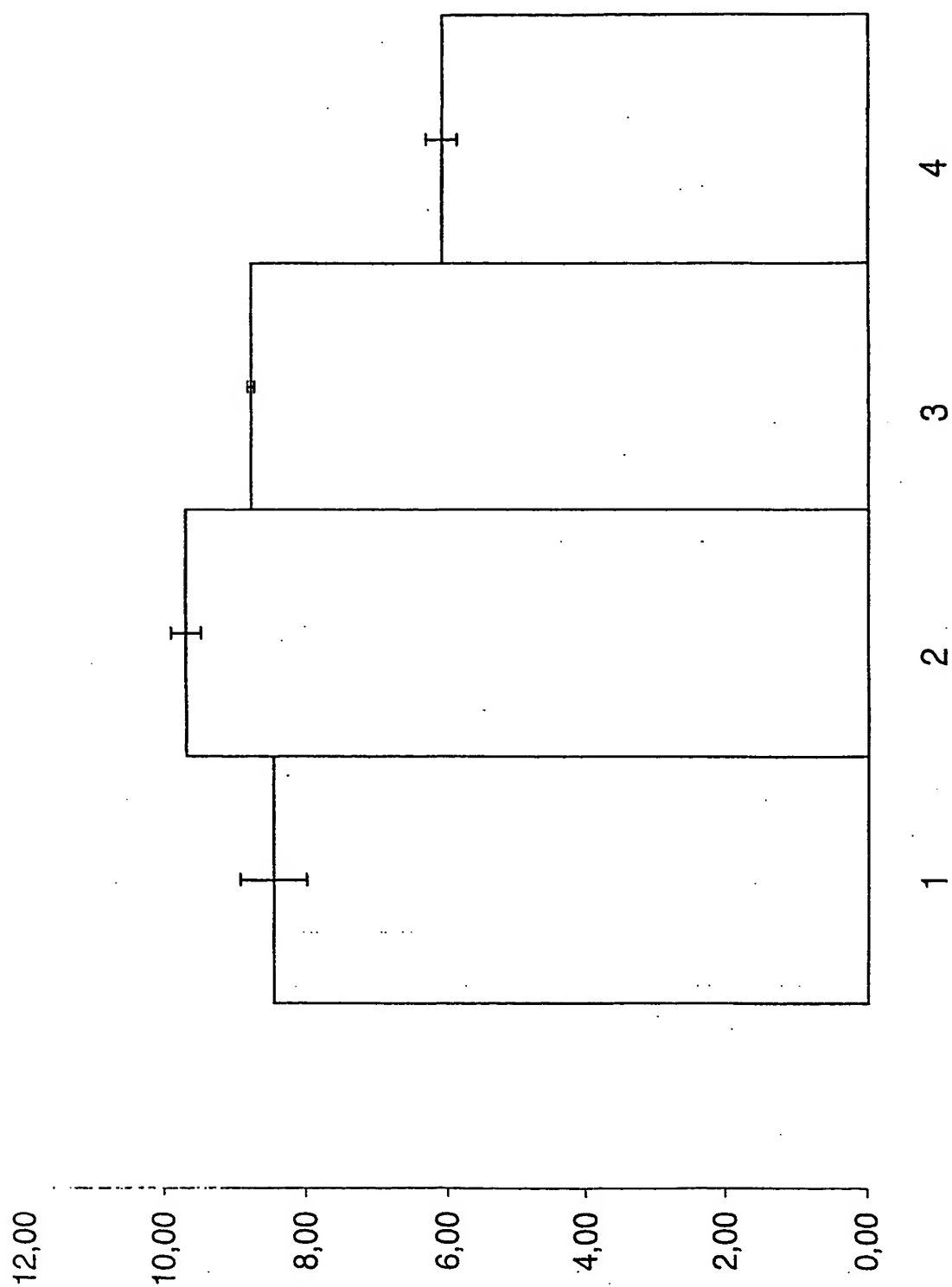


Fig. 2

3/6

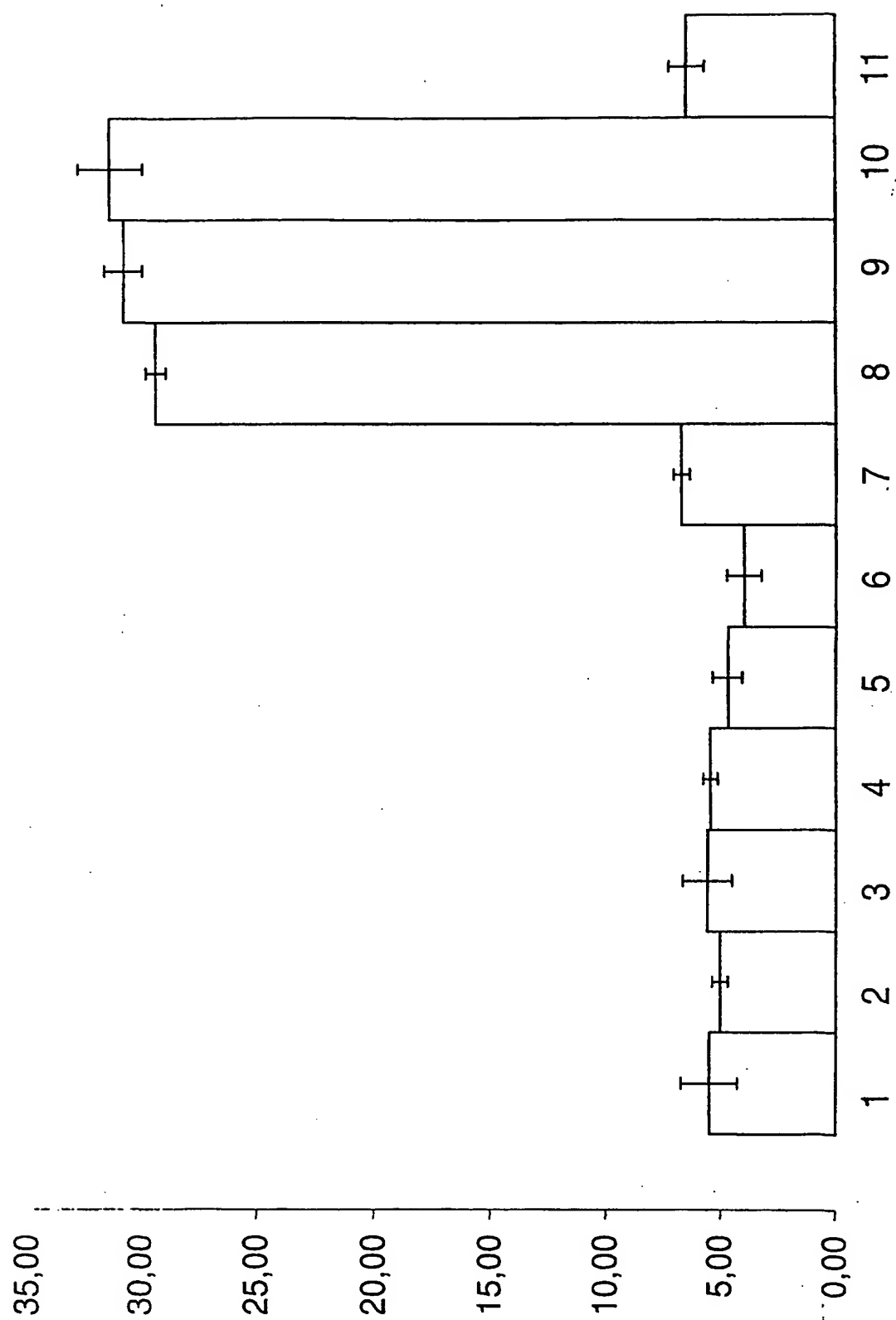
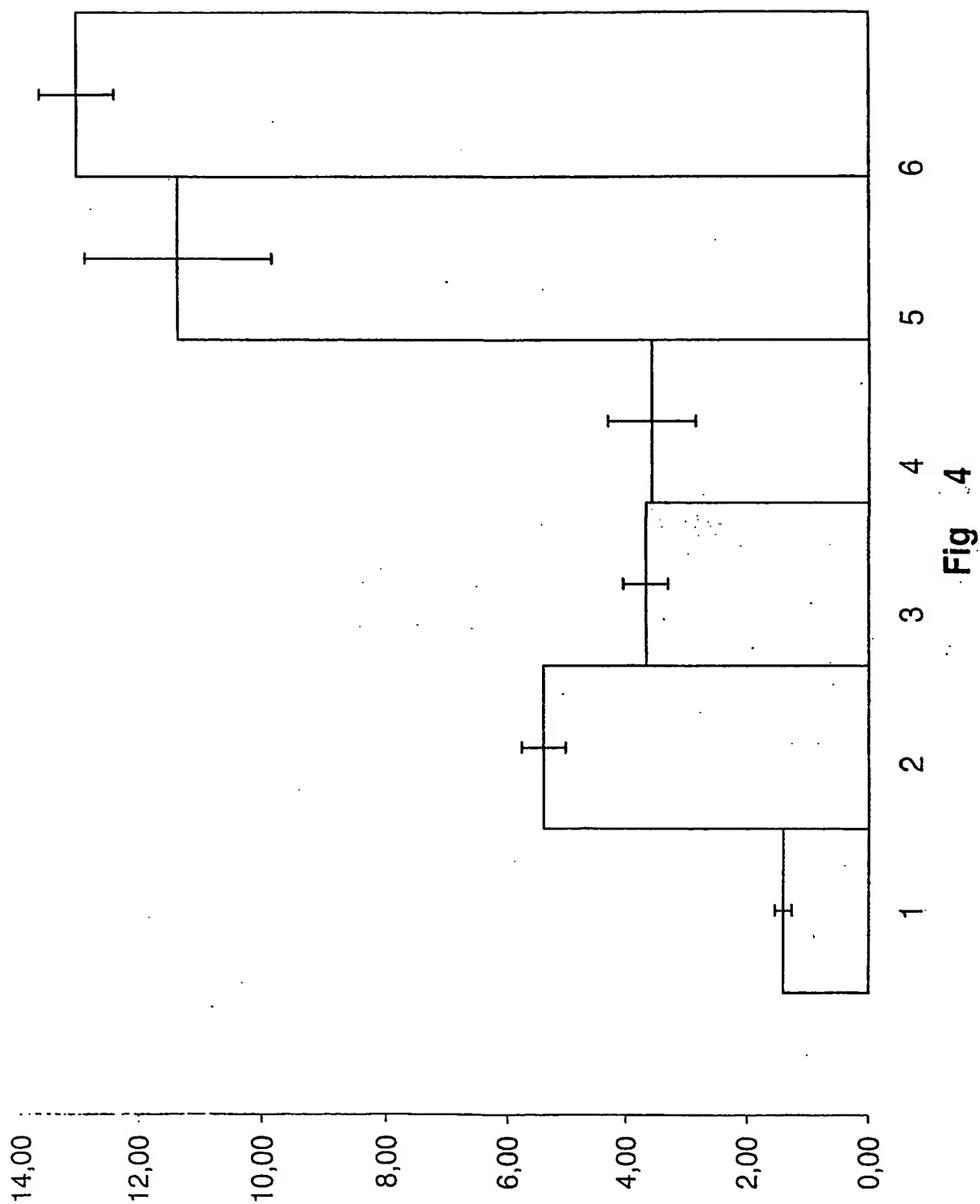


Fig 3



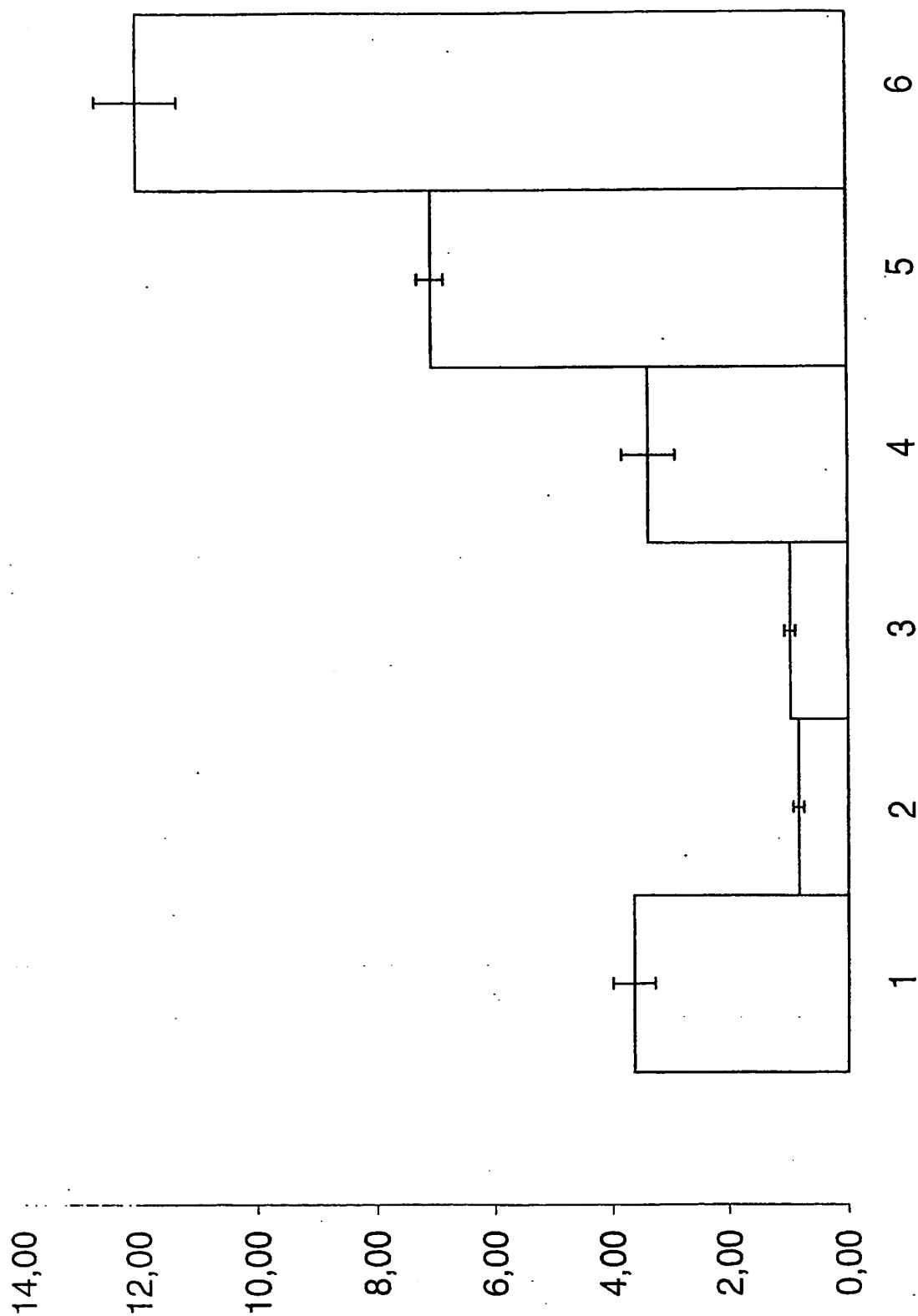


Fig 5

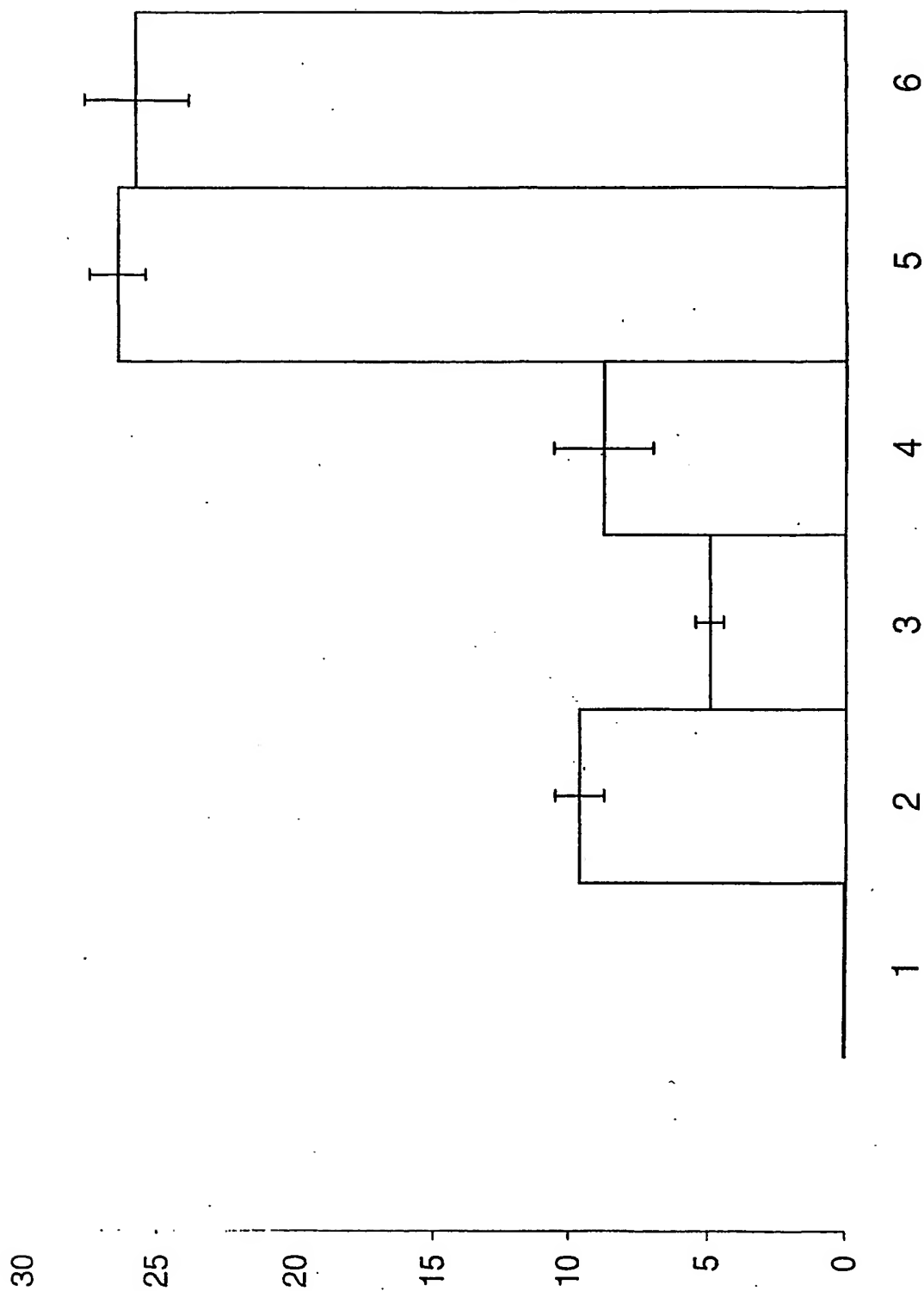


Fig 6

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
31. Januar 2002 (31.01.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/08301 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **C08F 8/30**,
C08G 85/00, A61K 31/155

GEILEN, Arne [DE/DE]; Sonnenstrasse 23, 63743 As-
chaffenburg (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP01/07666**

(74) Anwalt: **FETT, Günter**; CPW GmbH, Kasinostrasse
19-21, 42103 Wuppertal (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:
5. Juli 2001 (05.07.2001)

(81) Bestimmungsstaaten (national): JP, US.

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE, TR).

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 36 082.3 25. Juli 2000 (25.07.2000) DE

Veröffentlicht:
— mit internationalem Recherchenbericht

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **MEMBRANA GMBH** [DE/DE]; Öhder Strasse 28,
42289 Wuppertal (DE).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 23. Mai 2002

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **LEMKE, Horst, Di-
eter** [DE/DE]; Dr. Kittel Weg 6, 63785 Obernburg (DE).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: MODIFIED POLYMERIC SHAPED BODY, METHOD FOR PRODUCING THE SAME AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: MODIFIZIERTER POLYMERER FORMKÖRPER, VERFAHREN ZU SEINER HERSTELLUNG UND
SEINE VERWENDUNG

(57) Abstract: The invention relates to a modified polymeric shaped body that is producible by reacting diaminoguanidine and/or triaminoguanidine with a polymeric shaped starting body that carries groups R-X, wherein R is an alkylene group having 1 to 3 carbon atoms which is optionally substituted by a hydroxyl group, and X is a group that is substituted during the reaction by diaminoguanidine and/or triaminoguanidine, or with a polymeric shaped starting body that carries groups Y to which diaminoguanidine and/or triaminoguanidine can be added during reaction. The inventive modified polymeric body can be used to remove AGE precursors from blood, plasma or PBS buffer.

(57) Zusammenfassung: Mit einem modifizierten polymeren Formkörper, der herstellbar ist durch Umsetzung von Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste R-X trägt, wobei R eine gegebenenfalls durch eine Hydroxylgruppe substituierte Alkylengruppe mit 1 bis 3 Kohlenstoffatomen und X eine Gruppe ist, die während der Umsetzung durch Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin substituiert wird oder mit einem polymeren Ausgangsformkörper, welcher Reste Y trägt, an die während der Umsetzung Diaminoguanidin und/oder Triaminoguanidin addiert werden, können AGE-Precursor aus Blut, Plasma oder PBS-Puffer entfernt werden.

WO 02/08301 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter d Application No

PCT/EP 01/07666

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C08F8/30 C08G85/00 A61K31/155

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C08F C08G A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

PAJ, WPI Data, EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|---|-----------------------|
| A | WO 94 19379 A (BRITISH TECHNOLOGY GROUP LTD.) 1 September 1994 (1994-09-01) page 3 -page 4, line 18; claims 1-18 --- | 1 |
| A | US 5 994 577 A (S. D. LARSEN) 30 November 1999 (1999-11-30) claims 1,2 --- | 1 |
| A | US 5 128 360 A (A. CERAMI) 7 July 1992 (1992-07-07) cited in the application column 7, line 12 - line 30; claims 1-28 --- | 1 |
| A | US 4 159 898 A (C. COHEN) 3 July 1979 (1979-07-03) the whole document --- -/-- | 1 |

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 January 2002

Date of mailing of the international search report

31/01/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Permentier, W

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Application No
PC1/EP 01/07666

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|--|-----------------------|
| A | GB 1 020 059 A (MONSANTO COMPANY) 16 February 1966 (1966-02-16) claims 1-18 --- | 1 |
| A | US 3 950 539 A (H. MILITZER) 13 April 1976 (1976-04-13) claims 1-8 ----- | 1 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter. Application No.

PC1/EP 01/07666

| Patent document cited in search report | | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|---|---|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 9419379 | A | 01-09-1994 | AU 692432 B2 | 11-06-1998 |
| | | | AU 6009294 A | 14-09-1994 |
| | | | CA 2153151 A1 | 01-09-1994 |
| | | | DE 69410995 D1 | 16-07-1998 |
| | | | DE 69410995 T2 | 05-11-1998 |
| | | | DK 684958 T3 | 19-10-1998 |
| | | | EP 0684958 A1 | 06-12-1995 |
| | | | EP 0845481 A2 | 03-06-1998 |
| | | | WO 9419379 A1 | 01-09-1994 |
| | | | GB 2276170 A , B | 21-09-1994 |
| | | | JP 2975688 B2 | 10-11-1999 |
| | | | JP 8506846 T | 23-07-1996 |
| | | | US 5698190 A | 16-12-1997 |
| | | | US 5880208 A | 09-03-1999 |
| | | | US 5851518 A | 22-12-1998 |
| | | | US 6132706 A | 17-10-2000 |
| US 5994577 | A | 30-11-1999 | AT 205188 T | 15-09-2001 |
| | | | AU 705893 B2 | 03-06-1999 |
| | | | AU 4279696 A | 17-06-1996 |
| | | | BR 9509741 A | 21-10-1997 |
| | | | CA 2202265 A1 | 30-05-1996 |
| | | | CZ 9701369 A3 | 18-02-1998 |
| | | | DE 69522580 D1 | 11-10-2001 |
| | | | DE 793646 T1 | 30-12-1999 |
| | | | EE 9700094 A | 15-10-1997 |
| | | | EP 0793646 A1 | 10-09-1997 |
| | | | FI 972185 A | 22-05-1997 |
| | | | HU 77133 A2 | 02-03-1998 |
| | | | JP 10509455 T | 14-09-1998 |
| | | | NO 972346 A | 23-07-1997 |
| | | | PL 320361 A1 | 29-09-1997 |
| | | | SK 64097 A3 | 05-11-1997 |
| | | | WO 9616031 A1 | 30-05-1996 |
| | | | US 6329545 B1 | 11-12-2001 |
| | | | US 6166080 A | 26-12-2000 |
| US 5128360 | A | 07-07-1992 | US 4665192 A | 12-05-1987 |
| | | | US 5534540 A | 09-07-1996 |
| | | | US 5476849 A | 19-12-1995 |
| | | | US 5468777 A | 21-11-1995 |
| | | | US 5514676 A | 07-05-1996 |
| | | | US 5801200 A | 01-09-1998 |
| | | | US 5733933 A | 31-03-1998 |
| | | | US 5733524 A | 31-03-1998 |
| | | | US 5218001 A | 08-06-1993 |
| | | | US 5238963 A | 24-08-1993 |
| | | | US 5254593 A | 19-10-1993 |
| | | | US 5334617 A | 02-08-1994 |
| | | | US 5272176 A | 21-12-1993 |
| | | | US 5399560 A | 21-03-1995 |
| | | | US 5318982 A | 07-06-1994 |
| | | | US 5358960 A | 25-10-1994 |
| | | | US 5326779 A | 05-07-1994 |
| | | | AT 48998 T | 15-01-1990 |
| | | | AT 97741 T | 15-12-1993 |
| | | | AU 583034 B2 | 20-04-1989 |
| | | | AU 4153185 A | 11-10-1985 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inter Application No

PC1/EP 01/07666

| Patent document cited in search report | | Publication date | | Patent family member(s) | Publication date |
|---|------------|---------------------|------------|----------------------------|---------------------|
| US 5128360 | A | | CA | 1250587 A1 | 28-02-1989 |
| | | CA | 1294218 A1 | 14-01-1992 | |
| | | DE | 3574973 D1 | 01-02-1990 | |
| | | DE | 3587667 D1 | 05-01-1994 | |
| | | DE | 3587667 T2 | 17-03-1994 | |
| | | EP | 0175764 A1 | 02-04-1986 | |
| | | EP | 0322402 A2 | 28-06-1989 | |
| | | JP | 5172813 A | 13-07-1993 | |
| | | JP | 61501706 T | 14-08-1986 | |
| | | US | 5316754 A | 31-05-1994 | |
| | | WO | 8504169 A1 | 26-09-1985 | |
| | | US | 4900747 A | 13-02-1990 | |
| | | US | 6114323 A | 05-09-2000 | |
| | | US | 5766856 A | 16-06-1998 | |
| | | US | RE35465 E | 25-02-1997 | |
| | | US | 5852174 A | 22-12-1998 | |
| | | US | 5612332 A | 18-03-1997 | |
| | | US | 5811075 A | 22-09-1998 | |
| | | US | 5175192 A | 29-12-1992 | |
| | | US | 5128122 A | 07-07-1992 | |
| | | US | 5140048 A | 18-08-1992 | |
| | | US | 5096703 A | 17-03-1992 | |
| | | US | 5100919 A | 31-03-1992 | |
| | | US | 5106877 A | 21-04-1992 | |
| | | US | 5114943 A | 19-05-1992 | |
| | | US | 5258381 A | 02-11-1993 | |
| | | US | 5130324 A | 14-07-1992 | |
| | | US | 5130337 A | 14-07-1992 | |
| | | US | 5585344 A | 17-12-1996 | |
| | | US 4159898 | A | 03-07-1979 | FR |
| BE | 833053 A1 | | | | 04-03-1976 |
| DE | 2539381 A1 | | | | 18-03-1976 |
| IT | 1042438 B | | | | 30-01-1980 |
| NL | 7510639 A | | | | 12-03-1976 |
| US | 4071459 A | | | | 31-01-1978 |
| US | 4113637 A | | | | 12-09-1978 |
| GB 1020059 | A | 16-02-1966 | GB | 998869 A | |
| US 3950539 | A | 13-04-1976 | DE | 2408289 A1 | 11-09-1975 |
| | | | AU | 7835575 A | 19-08-1976 |
| | | | BE | 825805 A1 | 21-08-1975 |
| | | | DD | 117874 A5 | 05-02-1976 |
| | | | DK | 63875 A | 20-10-1975 |
| | | | ES | 434772 A1 | 01-02-1977 |
| | | | ES | 445528 A1 | 16-06-1977 |
| | | | ES | 445529 A1 | 16-06-1977 |
| | | | FI | 750462 A | 22-08-1975 |
| | | | FR | 2261759 A1 | 19-09-1975 |
| | | | IT | 1037155 B | 10-11-1979 |
| | | | JP | 50117740 A | 16-09-1975 |
| | | | LU | 71885 A1 | 05-01-1977 |
| | | | NL | 7501756 A | 25-08-1975 |
| | | | NO | 750557 A | 22-08-1975 |
| | | | SE | 7501972 A | 22-08-1975 |
| | | | ZA | 7501074 A | 28-01-1976 |

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C08F8/30 C08G85/00 A61K31/155

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RESEARCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C08F C08G A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

PAJ, WPI Data, EPO-Internal

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Betr. Anspruch Nr. |
|------------|---|--------------------|
| A | WO 94 19379 A (BRITISH TECHNOLOGY GROUP LTD.) 1. September 1994 (1994-09-01) Seite 3 -Seite 4, Zeile 18; Ansprüche 1-18 --- | 1 |
| A | US 5 994 577 A (S. D. LARSEN) 30. November 1999 (1999-11-30) Ansprüche 1,2 --- | 1 |
| A | US 5 128 360 A (A. CERAMI) 7. Juli 1992 (1992-07-07) in der Anmeldung erwähnt Spalte 7, Zeile 12 - Zeile 30; Ansprüche 1-28 --- | 1 |
| A | US 4 159 898 A (C. COHEN) 3. Juli 1979 (1979-07-03) das ganze Dokument --- | 1 |
| | --- -/- | |

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

8 Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. Januar 2002

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

31/01/2002

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Permentier, W

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

| Kategorie* | Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile | Beitr. Anspruch Nr. |
|------------|--|---------------------|
| A | GB 1 020 059 A (MONSANTO COMPANY) 16. Februar 1966 (1966-02-16) Ansprüche 1-18 ----- | 1 |
| A | US 3 950 539 A (H. MILITZER) 13. April 1976 (1976-04-13) Ansprüche 1-8 ----- | 1 |

INTERNATIONALER RESEARCHBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Interne Kennzeichen

PC1/EP-01/07666

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| WO 9419379 A | 01-09-1994 | AU 692432 B2 | 11-06-1998 |
| | | AU 6009294 A | 14-09-1994 |
| | | CA 2153151 A1 | 01-09-1994 |
| | | DE 69410995 D1 | 16-07-1998 |
| | | DE 69410995 T2 | 05-11-1998 |
| | | DK 684958 T3 | 19-10-1998 |
| | | EP 0684958 A1 | 06-12-1995 |
| | | EP 0845481 A2 | 03-06-1998 |
| | | WO 9419379 A1 | 01-09-1994 |
| | | GB 2276170 A ,B | 21-09-1994 |
| | | JP 2975688 B2 | 10-11-1999 |
| | | JP 8506846 T | 23-07-1996 |
| | | US 5698190 A | 16-12-1997 |
| | | US 5880208 A | 09-03-1999 |
| | | US 5851518 A | 22-12-1998 |
| | | US 6132706 A | 17-10-2000 |
| US 5994577 A | 30-11-1999 | AT 205188 T | 15-09-2001 |
| | | AU 705893 B2 | 03-06-1999 |
| | | AU 4279696 A | 17-06-1996 |
| | | BR 9509741 A | 21-10-1997 |
| | | CA 2202265 A1 | 30-05-1996 |
| | | CZ 9701369 A3 | 18-02-1998 |
| | | DE 69522580 D1 | 11-10-2001 |
| | | DE 793646 T1 | 30-12-1999 |
| | | EE 9700094 A | 15-10-1997 |
| | | EP 0793646 A1 | 10-09-1997 |
| | | FI 972185 A | 22-05-1997 |
| | | HU 771133 A2 | 02-03-1998 |
| | | JP 10509455 T | 14-09-1998 |
| | | NO 972346 A | 23-07-1997 |
| | | PL 320361 A1 | 29-09-1997 |
| | | SK 64097 A3 | 05-11-1997 |
| | | WO 9616031 A1 | 30-05-1996 |
| | | US 6329545 B1 | 11-12-2001 |
| | | US 6166080 A | 26-12-2000 |
| US 5128360 A | 07-07-1992 | US 4665192 A | 12-05-1987 |
| | | US 5534540 A | 09-07-1996 |
| | | US 5476849 A | 19-12-1995 |
| | | US 5468777 A | 21-11-1995 |
| | | US 5514676 A | 07-05-1996 |
| | | US 5801200 A | 01-09-1998 |
| | | US 5733933 A | 31-03-1998 |
| | | US 5733524 A | 31-03-1998 |
| | | US 5218001 A | 08-06-1993 |
| | | US 5238963 A | 24-08-1993 |
| | | US 5254593 A | 19-10-1993 |
| | | US 5334617 A | 02-08-1994 |
| | | US 5272176 A | 21-12-1993 |
| | | US 5399560 A | 21-03-1995 |
| | | US 5318982 A | 07-06-1994 |
| | | US 5358960 A | 25-10-1994 |
| | | US 5326779 A | 05-07-1994 |
| | | AT 48998 T | 15-01-1990 |
| | | AT 97741 T | 15-12-1993 |
| | | AU 583034 B2 | 20-04-1989 |
| | | AU 4153185 A | 11-10-1985 |

INTERNATIONALER RESEARCHBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Patentzeichen

PCT/EP 01/07666

| Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument | Datum der Veröffentlichung | Mitglied(er) der Patentfamilie | Datum der Veröffentlichung |
|--|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| US 5128360 A | | CA 1250587 A1 | 28-02-1989 |
| | | CA 1294218 A1 | 14-01-1992 |
| | | DE 3574973 D1 | 01-02-1990 |
| | | DE 3587667 D1 | 05-01-1994 |
| | | DE 3587667 T2 | 17-03-1994 |
| | | EP 0175764 A1 | 02-04-1986 |
| | | EP 0322402 A2 | 28-06-1989 |
| | | JP 5172813 A | 13-07-1993 |
| | | JP 61501706 T | 14-08-1986 |
| | | US 5316754 A | 31-05-1994 |
| | | WO 8504169 A1 | 26-09-1985 |
| | | US 4900747 A | 13-02-1990 |
| | | US 6114323 A | 05-09-2000 |
| | | US 5766856 A | 16-06-1998 |
| | | US RE35465 E | 25-02-1997 |
| | | US 5852174 A | 22-12-1998 |
| | | US 5612332 A | 18-03-1997 |
| | | US 5811075 A | 22-09-1998 |
| | | US 5175192 A | 29-12-1992 |
| | | US 5128122 A | 07-07-1992 |
| | | US 5140048 A | 18-08-1992 |
| | | US 5096703 A | 17-03-1992 |
| | | US 5100919 A | 31-03-1992 |
| | | US 5106877 A | 21-04-1992 |
| | | US 5114943 A | 19-05-1992 |
| | | US 5258381 A | 02-11-1993 |
| | | US 5130324 A | 14-07-1992 |
| | | US 5130337 A | 14-07-1992 |
| | | US 5585344 A | 17-12-1996 |
| US 4159898 A | 03-07-1979 | FR 2284601 A1 | 09-04-1976 |
| | | BE 833053 A1 | 04-03-1976 |
| | | DE 2539381 A1 | 18-03-1976 |
| | | IT 1042438 B | 30-01-1980 |
| | | NL 7510639 A | 12-03-1976 |
| | | US 4071459 A | 31-01-1978 |
| | | US 4113637 A | 12-09-1978 |
| GB 1020059 A | 16-02-1966 | GB 998869 A | |
| US 3950539 A | 13-04-1976 | DE 2408289 A1 | 11-09-1975 |
| | | AU 7835575 A | 19-08-1976 |
| | | BE 825805 A1 | 21-08-1975 |
| | | DD 117874 A5 | 05-02-1976 |
| | | DK 63875 A | 20-10-1975 |
| | | ES 434772 A1 | 01-02-1977 |
| | | ES 445528 A1 | 16-06-1977 |
| | | ES 445529 A1 | 16-06-1977 |
| | | FI 750462 A | 22-08-1975 |
| | | FR 2261759 A1 | 19-09-1975 |
| | | IT 1037155 B | 10-11-1979 |
| | | JP 50117740 A | 16-09-1975 |
| | | LU 71885 A1 | 05-01-1977 |
| | | NL 7501756 A | 25-08-1975 |
| | | NO 750557 A | 22-08-1975 |
| | | SE 7501972 A | 22-08-1975 |
| | | ZA 7501074 A | 28-01-1976 |